

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08762

研究課題名(和文) GSK-3およびオートファジー活性に着眼した新規心臓リモデリング抑制薬の開発

研究課題名(英文) Development of a novel drug therapy for cardiac remodeling focusing on the activity of GSK-3 and autophagy

研究代表者

帯刀 英樹 (TATEWAKI, Hideki)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：40343321

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ジメチルセレコキシブ(DMC)は、アドレナリン受容体刺激薬イソプレナリンにより誘導された心筋肥大および心臓線維化を有意に抑制した。In vitro実験において、DMCは心筋細胞に直接的に作用し、心筋肥大抑制因子glycogen synthase kinase-3 (GSK-3)を活性化したことから、これが病的な心臓リモデリング抑制の機序である可能性が考えられた。また、DMCはマウスにおいてイソプレナリンによるオートファジー活性の減弱を抑制したことから、オートファジー活性化作用も病的なリモデリング抑制と関連している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性心不全の患者数が増加する中、新規治療薬の開発が求められている。本研究において、DMCがGSK-3の活性化を介して病的な心臓リモデリング(心筋肥大・心臓線維化)を抑制する可能性が示唆された。また、その機序にDMCのオートファジー活性化作用が関与している可能性も示唆された。これらは、既存の慢性心不全治療薬とは異なる機序であることから、DMCは慢性心不全に対する新規の治療薬となる可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：2,5-dimethylcelecoxib (DMC) prevented cardiac hypertrophy and fibrosis induced by isoprenaline (ISO), a β -adrenergic receptor agonist, in mice. DMC directly affected cardiomyocytes and activated GSK-3 (negative regulator of cardiac hypertrophy). This result suggested that DMC prevented adverse cardiac remodeling via the activation of GSK-3. Furthermore, DMC suppressed the ISO-induced inactivation of autophagy in mice. Thus, this effect might also be associated with the mechanism of DMC on adverse cardiac remodeling.

研究分野：心臓血管外科関連

キーワード：心臓リモデリング 心筋肥大 オートファジー イソプロテレノール ジメチルセレコキシブ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

左室肥大は、圧負荷や容量負荷に対する適応反応であるが、負荷が続くと、病的な心臓リモデリング(過剰な心肥大、左室拡大、組織の線維化)が生じ、心不全をきたす。現在、 β アドレナリン受容体拮抗薬などが、病的リモデリングに対する治療薬とされているが、有効性は限られており、新しい治療戦略が渴望されている。

病的リモデリングにおける過剰な心筋肥大、線維化の一つの要因が心肥大抑制因子 glycogen synthase kinase-3 (GSK-3)の不活化である。

我々は、非ステロイド性抗炎症薬セレコキシブの誘導体であるジメチルセレコキシブ(DMC)が、GSK-3を活性化する作用を持つことを見出し、この薬物が遺伝性拡張型心肥症モデルと圧負荷(大動脈縮窄)モデルにおいて、左室リモデリング抑制効果、心機能改善効果を持つことを報告した。また、DMCは圧負荷モデルにおいて減弱したオートファジーの活性を回復させる作用も持つ可能性を見出した。

オートファジーの一時的な減弱が心筋肥大につながるとの報告もあり、DMCが心筋肥大を抑制する機序の一つにオートファジーの活性化が関与している可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は下記の2点である。

オートファジーの一時的な減弱が心筋肥大に関わるとの報告があるイソプロテレノール(ISO)誘導心筋肥大マウスモデルを用いて、DMCがオートファジーに与える影響を検証することである。さらに、ISOにより肥大を誘導したH9c2細胞を用いた細胞実験により、DMCの作用機序を解明する。

3. 研究の方法

DMCの心筋リモデリングに対する効果を *in vivo* 実験にて検証する。C57BL/6マウスに対し、非選択的 β 受容体刺激薬であるイソプロテレノール(ISO)を持続皮下投与し(20mg/kg/day)、治療薬であるDMCは同期間エサに混合(1000ppm)して経口摂取させる。2週間後心臓を摘出し、心重量、心肥大の程度や左心室の線維化の程度を評価する。Western blotting等を用いて心肥大マーカーやオートファジーマーカーの変化を確認する。

次に、DMCが心筋細胞自体に与える効果とその機序を *in vitro* 実験にて検証する。ラット心筋細胞H9c2細胞に対し、DMC(3 μ M)またはvehicleで3時間前処置した後、ISO(5 μ M)にて48時間刺激する。心筋細胞面積を測定し、肥大の指標とする。心肥大マーカーやオートファジーマーカーの変化を確認する。GSK-3に関連するシグナルタンパクを中心に変化を確認し、DMCの機序を検証する。

4. 研究成果

In vivo 実験において、DMCはISO投与による心重量増大を抑制する傾向を示した。組織評価にて、DMCはISOによる心筋細胞断面積の増大を有意に抑制した。また、DMCはISOにより誘導された左室線維化を有意に抑制した。これらにより、ISO誘導心臓リモデリング(心筋肥大、心臓線維化)をDMCが抑制することが示唆された。ウエスタンブロッティングの結果より、DMCはISOによるAktとGSK-3のリン酸化率の上昇を有意に抑制したことから、DMCはAkt阻害により心筋肥大抑制因子GSK-3を活性化することが示唆された。オートファジーの検証実験では、ISO投与によりオートファジーのマーカーのBeclin-1の発現が減少したが、DMCはこ

の減少を抑制した。また、DMCはISOによるオートファジー抑制因子 mTOR の発現増加を抑制した。このことから、ISOによるオートファジー活性の減弱を DMC が抑制することが示唆された。

In vitro 実験において、DMCはISOによる細胞面積増大を有意に抑制した。また、ISOによる GSK-3 β の不活化を有意に抑制した。DMCに関して初となる in vitro 実験を通して、DMCが直接的に心筋細胞に作用してこれらの変化を及ぼすことが明らかとなった。これらの結果より、DMCは心筋細胞に直接的に作用し、Akt抑制による GSK-3 の活性化を介して心肥大を抑制することが示唆された。

また、オートファジーに関しては、in vitro 実験での検証を現在継続中であるが、in vivo 実験の結果から、DCMはオートファジー活性を維持させる効果を有していることが明らかとなった。オートファジーは心臓肥大および線維化に密接に関連していることから DMC の心臓リモデリング抑制効果の機序にオートファジーの活性化作用が関与している可能性が示唆された。

本研究を通して、DMCは既存の慢性心不全治療薬とは異なる機序を介して心臓リモデリングを抑制する可能性が示唆され、DMCが慢性心不全に対する新規の治療薬となる可能性があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------